

Title	The Region—specific Expression of the mRNAs Encoding β Subunits ($\beta 1$, $\beta 2$, and $\beta 3$) of GABAA Receptor in the Rat Brain
Author(s)	張, 建華
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37310
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について /a> をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	ちょう 張	けん 建	か 華
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	9 4 2 0	号
学位授与の日付	平成 2 年 12 月 4 日		
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当		
学位論文題目	The Region-specific Expression of the mRNAs Encoding β Subunits (β_1 , β_2 , and β_3) of GABA _A Receptor in the Rat Brain (GABA _A 受容体 β サブユニット ($\beta_1, \beta_2, \beta_3$) のラット脳内遺伝子発現)		
論文審査委員	(主査) 教 授 遠山 正彌	(副査) 教 授 津本 忠治	教 授 三木 直正

論文内容の要旨

〔目 的〕

GABA は脳内での抑制系伝達物質として知られ、その受容体には GABA_A 受容体と GABA_B 受容体が存在する。GABA_A 受容体は α , β , γ , δ のサブユニットより構成され、更に α には 1-6 の、 β には 1-3 の、 γ には 1, 2 のサブタイプが存在する。このことは GABA_A 受容体の構造は脳内各ニューロンにより異なることを示唆する。本研究では β_1 , β_2 , β_3 各サブタイプ mRNA に対する合成オリゴヌクレオチドをプローブとし、In situ ハイブリダイゼーション (ISH) 法を行い、各 β サブユニットの脳内遺伝子発現を検討した。

〔方 法〕

体重約 150 g の Wistar 系雄性ラットを用いた。ラットを 4% パラホルムアルデヒドにて灌流固定又は断頭後脳を取り出し、ドライアイスにて凍結し、10-15 μ m の切片を作成した。新鮮凍結した組織は切片作製後 4% パラホルムアルデヒドで 5 分間後固定を行った。ISH 法に用いたプローブは ³⁵S-dATP で標識した 48mer 合成オリゴヌクレオチドで β_1 , β_2 , β_3 各サブユニット mRNA に特異的な部位を選択した。反応には、各スライドガラスに対し 1~1.5 ng のプローブを用いた。切片は反応液と 2 日間インキュベーションし、55℃にて 1×SSC (0.15M NaCl 0.05M クエン酸ナトリウム) 中で 1 時間洗った後、乾燥し、乳剤を塗布した。露出は 4~6 週間、4℃にて行った。各切片は現像後、対比染色を行い封入し、観察に供した。

〔結 果〕

β_1 , β_2 , β_3 mRNA 含量は脳内各ニューロンによって著しく異なった。 β_1 , β_2 , β_3 の三者

のプローブにより標識されるニューロンは、大脳新皮質、嗅球の僧帽細胞層、脳幹網様体などである。一方 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ プローブに標識され、 $\beta 2$ プローブには標識されない部位は、分界条（床）核、舌下神経核、迷走神経背側核、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$ プローブに標識され、 $\beta 1$ プローブには標識されない部位は、嗅球前核、前庭神経核、小脳核などであった。 $\beta 2$ にのみ標識される部位は、淡蒼球、視床等、また $\beta 3$ にのみ標識される部位は、嗅球の顆粒細胞層、尾状核、被殻、嗅結節であった。

次に視床の各 β サブユニットの遺伝子発現を、個体発生的に検討した。その結果 $\beta 3$ サブユニットの遺伝子発現は生直後すでに観察され、生後3日前後にピークとなり、以後減少し、生後21日以後、有意な発現は殆んど認められなかった。一方、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ サブユニットの遺伝子発現は成長と共に増加することが明らかとなった。

〔総括〕

以上の結果より、 $\beta 1-3$ サブユニットの分布は脳内各部によりきわめて多様であることが明らかとされ、GABAの作用の多様性は受容体の多様性によるものであることが強く示唆された。また視床においては、 $\beta 3$ mRNAが幼若期のみ一過性に出現することより $\beta 3$ サブユニットはこの部位の細胞の成熟に、一方 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ は成熟動物でも豊富な遺伝子発現が見られることより、GABA伝達に開与しているものと思われる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、抑制性伝達物質であるGABA受容体の $\beta 1-3$ 各サブユニットmRNA含有細胞の分布を In situ ハイブリダイゼーション法を用いて検討したものである。

その結果、ニューロンにより（ $\beta 1-3$ の各サブユニットの一つしか含有しているもの、いずれか二者を含有するもの、三者を含有するものに分けられる。この事実はGABAという物質一つに実に多様な受容体種が存在することを示す。

また発生学的には、 $\beta 3$ はシナプスの存在しない時期にも発現しており、GABAの栄養因子としての役割は $\beta 3$ を介する可能性も見い出した。本研究は、このようにGABA研究に新しい展開をもたらしたもので学位論文に値するものである。